

## ДИАПАЗОН ТЕМПЕРАТУР ДЛЯ РОСТА АНТАРКТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Проведена оценка температурного диапазона роста микроорганизмов, изолированных при различных температурах (1–5 °С или 30 °С) из биотопов Антарктики (почва, трава *Deschampsia antarctica*, трава *Colobanthus*, зелёный мох, накипные чёрные лишайники и биоплёнка обрастания на вертикальных скалах). От 40 до 70 % исследованных антарктических микроорганизмов, независимо от температурного режима их выделения, были способны расти в широком температурном диапазоне (от 1 °С до 30 °С), т.е. являлись психротолерантными. В селективных условиях (1 °С или 5 °С) выделены психрофильные антарктические бактерии и дрожжи, которые росли в диапазоне от 1 °С до 20 °С и не росли при 30 °С. Из числа антарктических микроорганизмов, изолированных в неселективных условиях (при 30 °С), почти 50 % были способны расти при крайне низкой температуре (5 °С), и меньшее число штаммов – при 1 °С. С понижением температуры культивирования лаг фаза роста антарктических бактерий увеличивалась. Однако уровень конечной биомассы не зависел от температуры культивирования. При сравнении температурного диапазона роста мезофильных антарктических бактерий и коллекционных штаммов тех же видов, выделенных более 10-ти лет назад из региона с умеренным климатом, среди последних также выявлены психротолерантные формы. Т.о., показано, что исследованные антарктические бактерии способны существовать в температурном диапазоне, характерном для наземных биотопов Антарктики (от 1 °С до 10 °С).

**Ключевые слова:** Антарктика, психрофильные микроорганизмы, температурный диапазон.

Психрофильные/психротолерантные микроорганизмы обнаружены в различных полярных экосистемах. Видимо, под воздействием экстремальных низкотемпературных условий у них сформировались специфические защитные механизмы (криопротекторы, антифризы и др.) [9, 10]. Имеются сведения о молекулярных механизмах адаптации к низким температурам ферментов психрофильных микроорганизмов [10, 12, 13]. В связи с высоким биотехнологическим потенциалом психрофилов [9, 10], нами в наземных биотопах Антарктики осуществлён поиск психрофилов в селективных условиях (культивирование при 1-5 °С) и изолированы микроорганизмы, растущие при низких температурах [5]. Однако их выделение не означает автоматически, что они не могут расти при более высокой температуре. Поэтому цель данной работы – определить температурный диапазон роста антарктических микроорганизмов и выявить среди них различные физиологические группы по отношению к температуре роста (психрофильные, психротолерантные, мезофильные, термотолерантные).

**Материалы и методы.** Объектами исследования служили изолированные нами ранее из различных биотопов Антарктики (почва, трава *Deschampsia antarctica*, трава *Colobanthus*, зелёный мох, накипные чёрные лишайники и биоплёнка обрастания на вертикальных скалах) аэробные хемоорганотрофные микроорганизмы: растущие при 1-5 °С [5] и при 30 °С [6] (таблица). Чистые культуры бактерий и дрожжей изолировали стандартными методами. Для сравнения изучали также бактерии, изолированные ранее из регионов с умеренным климатом (Украина) в неселективных условиях (при 30 °С). Среди них: (1) коллекционные (УКМ) штаммы факультативных метилотрофных бактерий, выделенные нами более десяти лет назад [1, 2]: *Methylobacterium mesophilicum* (B-3352, B-3354, B-3357, B-3380, B-3383, B-3389); *M. fujisawaense* (B-3342, B-3351, B-3365); *M. extorquens* (B-3360, B-3362, B-3368); *M. zatmanii* (B-3339); (2) свежевыделенные аэробные хемоорганотрофные бактерии (штаммы Кр5г1, Кр5г2 и др.), изолированные из заповедника Аскания-Нова (Украина) [5].

**Список антарктических аэробных хемоорганотрофных микроорганизмов,  
исследованных в данной работе**

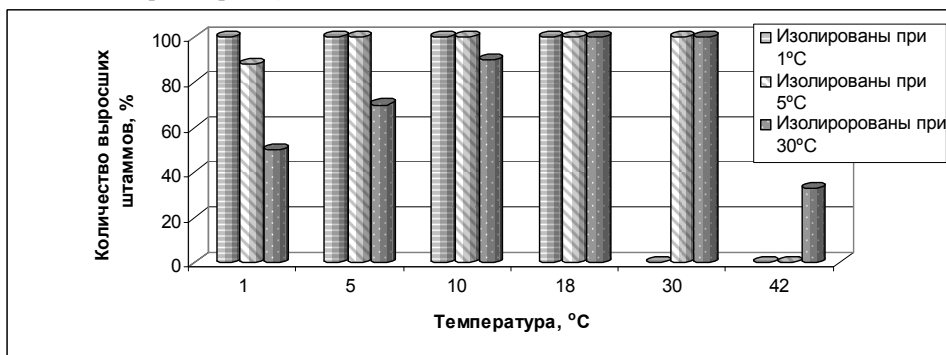
№, № штаммов	Происхождение	
	Регион западной Антарктики	Источник выделения
Изолированы при температуре 1-5°C [5]		
4p5	o. Galindez, Тр-11	Трава <i>Decshampcia antarctica</i>
5p5	o. Galindez, станция	Трава <i>Decshampcia antarctica</i>
6p1	o. Galindez, 013	Мох зелёный
11p1	o. Galindez, 017	Тёмно-зелёный мох
11p51		
11p52		
11p53		
11p54		
23p1	o. Galindez	Почва вблизи озера
28p1	o. Galindez, Тск-1	Чёрные лишайники на скале
28p51	o. Galindez	Биоплёнка на скале
28p52		
40p1	o. Galindez, 033	Зелёный лишайник
40p51	o. Galindez	Сухой лишайник
40p52	o. Galindez	Зелёный лишайник
Изолированы при температуре 30°C [4, 6, 8]		
УКМ В-3176	o. Galindez Тск-1	Чёрные лишайники (или биоплёнки) на вертикальной скале. Тск-1 – верхняя точка скалы. Тск-11 – нижняя точка скалы.
УКМ В-3177	o. Galindez Тск-1	
УКМ В-3179	o. Galindez Тск-2	
УКМ В-3180	o. Galindez Тск-3	
УКМ В-3272	o. Galindez Тск-11	
*УКМ В-3202	o. Galindez, полигон Украинской антарктической станции	Почва
*УКМ В-3204		
*УКМ В-3208		
Факультативные метилотрофные бактерии, изолированы при 30°C [3, 11]		
УКМ В-3318	o. Galindez, полигон Украинской антарктической станции	Мох на полигоне
**УКМ В-3319		Почва на полигоне
УКМ В-3320		Мох на полигоне
УКМ В-3294	o. Galindez Тск-5	Черные лишайники на скале
УКМ В-3321	o. Galindez	Мох на полигоне
**УКМ В-3312	o. King-Georg	Розовый лишайник
УКМ В-3316	o. King-Georg	Кожистые биоплёнки
УКМ В-3394	****мыс Rasmussen	Мох зелёный
УКМ В-3395	o. Petermann	Почва
УКМ В-3285	o. Petermann	Ил пресного водоёма
**УКМ В-3391	o. Irizar	Почва
УКМ В-3280	o. Three little pig	Лишайники
УКМ В-3281	o. Lippmann	Мох зелёный
УКМ В-3282	o. Lippmann	Лишайники
УКМ В-3283	o. Lippmann	Трава <i>Decshampcia antarctica</i>
УКМ В-3310	o. Booth	Мох зелёный
**УКМ В-3392	o. Berthelot	Почва
Дрожжи, изолированные при 30°C [6, 7]		
***3210	o. Galindez	Почва
***2299	o. Galindez	Лишайник на скале
181c1	o. Galindez Тск-2	Биоплёнка на скале
182c2	o. Galindez Тск-3	Биоплёнка на скале
***209c1	o. Galindez Тск-23	Биоплёнка на скале
14c	o. Three little pig	Лишайник
15c	o. Three little pig	Чёрный лишайник
33c	o. Lippmann	Почва под мхом
***36c	o. Irizar	Почва на скале
48c	o. Darboux	Мох на скале
237	****мыс Rasmussen	Глинистая почва

**Примечание.** УКМ – Украинская коллекция микроорганизмов. Тск – стационарные пункты мониторинга на биогеографическом полигоне Украинской антарктической станции им. Вернадского (остров Galindez, Антарктика). \**Brevibacterium antarcticum*: УКМ В-3204; \**Enterobacter hormaechei*: УКМ В-3202, УКМ В-3208. \*\**Methylobacterium extorquens*: УКМ В-3319, УКМ В-3312, УКМ В-3391, УКМ В-3392. \*\*\**Exophiala nigra*: 36c, 209c1, 2299, 3210. \*\*\*\*Западное побережье Антарктического полуострова

Температурный диапазон роста антарктических микроорганизмов определяли путем культивирования их при различной температуре (от 1 °С до 42 °С) на питательных средах, на которых они были первоначально изолированы [3, 5-7]: глюкозо-картофельный агар (ГКА), мясо-пептонный агар (МПА), солодовое сусло агаризованное (СА), а также минеральная среда ММ (источник углеродного питания – метанол). Для подавления роста микромицетов в среды добавляли 50 мг нистатина на 1 л среды. Посевы культивировали при +1 °С, +5 °С, +10 °С (до 30 суток), при +18 °С, +30 °С, +42 °С (до 10 суток). Учёт опыта проводили с 1-3-суточной периодичностью. Оценивали визуально наличие или отсутствие роста, длительность лаг фазы роста и интенсивность прироста биомассы.

Температуру в холодильных камерах измеряли и калибровали с помощью лабораторных ртутных термометров (диапазон измерения – от -10 °С до +50 °С), а также лазерного инфракрасного термометра (Infrared thermometer) (диапазон измерения – от -50 °С до +500 °С, точность показания шкалы – 1.5 %). При калибровке температуры в холодильных камерах измерение температуры проводили 8 раз в сутки, колебание температур (+1 °С, +5 °С, +10 °С) в холодильных камерах в течение суток составляло ± 0.7-0.9 °С.

**Результаты и их обсуждение.** Из накопительных культур микроорганизмов, выделенных в селективных условиях (при 1-5 °С) из растительно-почвенных образцов наземных биотопов Антарктики изолированы чистые культуры бактерий и дрожжей. С целью выявить различные физиологические группы по отношению к температуре роста у них определяли температурный диапазон роста (рис. 1).



**Рис. 1. Способность расти при различных температурах (от +1 °С до +42 °С) антарктических бактерий, изолированных при: 1 °С, 5 °С и 30 °С**

Для сравнения в экспериментах использовали мезофильные антарктические бактерии, изолированные при 30 °С. Как следует из приведенных результатов (рис. 1):

- В селективных условиях (1 °С или 5 °С) выделены психрофильные антарктические бактерии и дрожжи, которые росли в диапазоне 1 °С-20 °С и не росли при 30 °С.

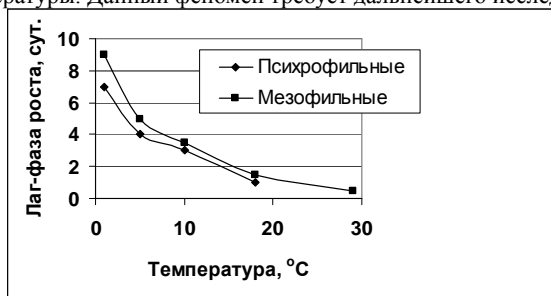
- Большинство исследованных антарктических микроорганизмов, независимо от температурного режима их выделения, способны расти в широком диапазоне (от 1 °С до 30 °С), т.е. они являются психротолерантными.

- Вместе с тем, из числа антарктических микроорганизмов, изолированных в неселективных условиях (при 30 °С), более 50 % способны расти при 5 °С, и более 40 % – при весьма низкой температуре (1 °С).

Т.о., установлено, что антарктические бактерии, изолированные при температуре 1 °С (или 5 °С), представлены двумя группами: психрофильные и психротолерантные. Полученные результаты свидетельствуют о том, что хемоорганотрофные антарктические бактерии способны существовать в температурном диапазоне от 1 °С до 10 °С, который характерен для Антарктики.

Для оценки активности роста исследованных штаммов при различных температурных режимах мы использовали такой показатель как длительность лаг фазы их роста. Показано, что с понижением температуры культивирования антарктических психрофильных бактерий лаг фаза роста увеличивалась (рис. 2). Аналогичный результат был получен и для мезофилов. Вместе с тем, уровень конечной биомассы у исследованных штаммов не зависел от температуры культивирования. Поскольку в наших экспериментах условия подготовки инокулята психрофилов и условия их выращивания не отличались, можно предположить, что продол-

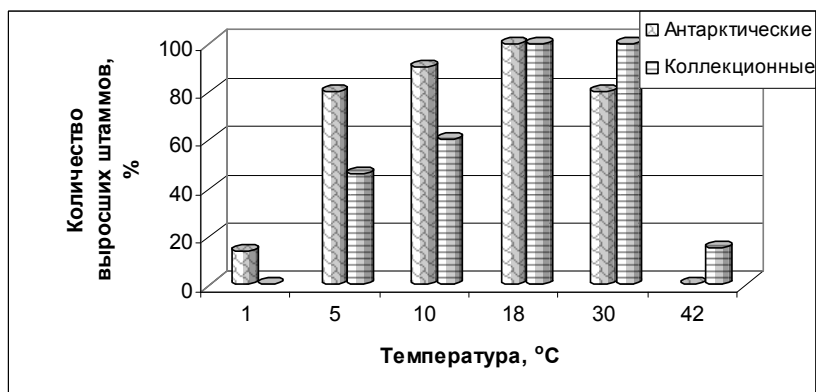
жительство лаг фазы у исследованных бактерий связана с метаболической активностью, возможно с активностью отдельных ферментов, у которых скорость реакции зависит от внутриклеточной температуры. Данный феномен требует дальнейшего исследования.



**Рис. 2.** Длительность лаг фазы роста антарктических психрофильных и мезофильных бактерий при различных температурах культивирования

Учитывая, что (1) географическая изоляция антарктических островов вряд ли представляет непреодолимый барьер для микробного рассеивания, (2) в регионах с умеренным климатом в зимний период происходит снижение температуры до минусовых значений, мы предположили, что и в регионах с умеренным климатом должны присутствовать виды микроорганизмов, адаптированные к низкой температуре. Поэтому определяли: отличается ли температурный диапазон роста мезофильных бактерий, изолированных из наземных биотопов Антарктики (антарктические бактерии) от такового мезофильных бактерий, выделенных из региона с умеренным климатом (коллекционные штаммы)? Для этих экспериментов мы использовали одну из исследованных групп бактерий – штаммы факультативных метилотрофов (метилотрофы), способные расти на метаноле, как единственном источнике углеродного питания.

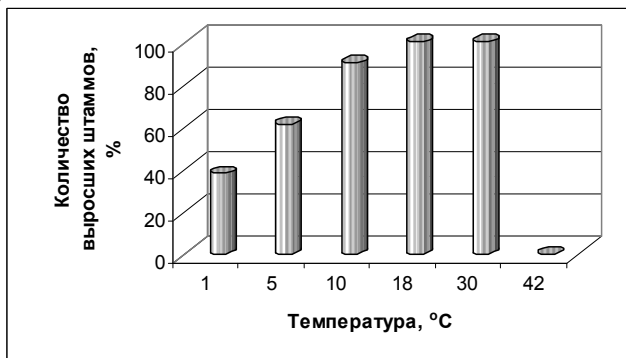
Показано, что антарктические метилотрофы росли в температурном диапазоне от 1 °C до 30 °C, причём с повышением температуры до 18 °C количество выросших штаммов возрастало, при 30 °C – уменьшилось до 80 %, при 42 °C рост отсутствовал (рис. 3). Коллекционные метилотрофы, изолированные из почв и филлосферы растений Украины, росли в температурном диапазоне от 5 °C до 42 °C, причём максимум был получен в диапазоне 18 °C-30 °C, минимум – при 42 °C и ни один исследованный коллекционный штамм метилотрофов не рос при 1 °C (рис. 3). Т.о., среди коллекционных мезофильных бактерий были выявлены психротолерантные формы. Подобные закономерности обнаружены в экспериментах с неметилотрофными бактериями другими авторами [15]. Однако, если максимальный прирост биомассы у исследованных штаммов наблюдался при 30°C через 2-3 суток, то при 10 °C – через 5-8 суток. При низких температурах наблюдалась длительная лаг фаза роста, в течение которой, видимо, метаболизм клетки перестраивается. В конечном итоге, прирост биомассы при 10 °C за 5-8 суток роста достигал того же уровня, что и за 2-3 суток роста при 30 °C.



**Рис. 3.** Сравнительная характеристика температурного диапазона роста метилотрофных бактерий, изолированных из полярного региона (антарктические) и из региона с умеренным климатом (коллекционные)

Т.о., среди мезофильных штаммов метилотрофных бактерий, изолированных из регионов с умеренным климатом, выявлены психротолерантные формы, что свидетельствует о потенциальной возможности этих бактерий существовать при низких температурах. В результате, метилотрофные бактерии из регионов с умеренным климатом могут колонизировать фитоценозы Антарктики, т.к. растут при 5 °С-10 °С.

Для более полной характеристики микроценозов Антарктики изучен температурный диапазон роста антарктических дрожжей. Установлено, что исследованные штаммы дрожжей росли в температурном диапазоне от 1 °С до 30 °С, причём максимальное количество штаммов росло в диапазоне 18 °С-30 °С, минимум – при 1 °С и ни один исследованный штамм не рос при 42 °С (рис. 4). В целом, среди антарктических дрожжей, изолированных при температуре 30 °С (мезофилы), почти 50 % были способны расти при весьма низких температурах (1 °С или 5 °С).



**Рис. 4. Температурный диапазон роста дрожжей, изолированных из биотопов Антарктики.**

Согласно нашим результатам, психрофильные микроорганизмы выявлены в различных экосистемах Антарктики: фитоценозах, почве, в биоплёнках обрастания на скалах [5, 11]. По литературным данным [9] они также обнаружены в ледниковом и морском льду, полярных морских водах, где средняя температура обычно немного ниже 0 °С. Эта низкая температура не предел для выживания психрофилов. Так, например, из арктического образца вечной мерзлоты изолированы бактерии, которые согласно сиквенсу генов 16S rRNA, принадлежали филюмам *Firmicutes* (преобладающее количество), *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Большинство изолятов (19 из 23) были психротолерантными бактериями и три изолята росли при -5 °С [14]. Вместе с тем известно, что формирование льда в клетке приводит к гибели. Поэтому у психрофилов под воздействием экстремальных температурных условий сформировались специфические защитные механизмы, такие, как биосинтез криопротекторов и так называемых ледструктурированных белков (ice structuring proteins), а также антифризов [9, 10]. У психрофилов также намного выше удельная активность некоторых ферментов при низких температурах, чем у мезофильных штаммов того же вида [9]. Поэтому психрофильные микроорганизмы представляют серьёзную альтернативу мезофилам в различных биотехнологиях. Данное направление находится только в ранней стадии развития, и поэтому возможны новые и неожиданные открытия в этой области исследований.

**В.О. Романовська, О.Б. Таширеєв, Г.В. Гладка, Г.О. Таширеєва**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України, вул. Акад. Заболотного 154, Київ, МСП, Д03680, Україна*

#### **ДИАПАЗОН ТЕМПЕРАТУР ДЛЯ РОСТУ АНТАРКТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ**

##### **Резюме**

Проведена оцінка температурного діапазону росту мікроорганізмів, ізольованих при різних температурах (1-5°C або 30°C) із біотопів Антарктики (грунт, трава *Deschampsia antarctica*, трава *Colobanthis*, зелений мох, накипні чорні лишайники і біоплівка обрастания на вертикальних скелях). Від 40 до 70%

досліджених антарктичних мікроорганізмів, незалежно від температурного режиму їх відлення, здатні рости в широкому температурному діапазоні (від 1°C до 30°C), тобто вони є психротолерантними. У селективних умовах (1°C або 5°C) виділені психрофільні антарктичні бактерії і дріжджі, які росли в діапазоні від 1°C до 20°C і не росли при 30°C. Із числа антарктичних мікроорганізмів, ізольованих в неселективних умовах (при 30°C), майже 50% здатні рости при низькій температурі (5°C), і менше число штамів – при 1°C. Із пониженням температури культивування лаг фаза росту антарктичних бактерій збільшувалася. Проте рівень кінцевої біомаси в досліджених штамів не залежав від температури культивування. При порівнянні температурного діапазону росту мезофільних антарктичних бактерій і колекційних штамів тих же видів, виділених більше 10-ти років тому з регіону з помірним кліматом, серед останніх також виявлені психротолерантні форми. Таким чином, показано, що досліджені антарктичні мікроорганізми здатні існувати в температурному діапазоні, характерному для наземних біотопів Антарктики (від 1°C до 10°C).

*Ключові слова.* Антарктика, психрофільні мікроорганізми, температурний діапазон.

**V.A. Romanovskaya, A.B. Tashyrev, G.V. Gladka, A.A. Tashyreva**

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

## TEMPERATURE RANGE FOR GROWTH OF THE ANTARCTIC MICROORGANISMS

### S u m m a r y

The assessment of a temperature range for growth of microorganisms isolated at various temperatures (1-5 °C or 30 °C) from biotopes of the Antarctic region (soil, grass *Deschampsia antarctica*, grass *Colobanthus*, a green moss, crustose black lichens and encrustation biofilm on vertical rocks) is made. From 40 to 70 % of the investigated Antarctic microorganisms, irrespective of temperature conditions of their isolation, were capable of growing in a wide temperature range (from 1°C to 30 °C), i.e. they are psychrotolerant. In selective conditions (1 °C or 5 °C) the psychrophilic Antarctic bacteria and yeast are isolated which grew in the range from 1 °C to 20 °C and did not grow at 30 °C. At the same time, among the Antarctic microorganisms isolated in nonselective conditions (at 30 °C), almost 50 % are capable of growing at the lowest temperature (5 °C), and a smaller number of strains – at 1 °C. However with a decrease of cultivation temperature the growth lag-phase of the Antarctic bacteria increased. Thus the level of the final biomass of the investigated strains did not depend on cultivation temperature. When comparing the temperature range of growth of the mesophilic Antarctic bacteria and collection strains of the same species isolated more than 10 years ago from the region with a temperate climate, the psychrotolerant forms were also revealed among the latter. So, it is shown that the investigated Antarctic bacteria can exist in the temperature range characteristic of terrestrial biotopes of the Antarctic Region (from 1°C to 10 °C).

The paper is presented in Russian.

**К e y w o r d s:** the Antarctic Region, psychrophilic microorganisms, temperature range.

**T h e a u t h o r ' s a d d r e s s:** Romanovskaya V.A., Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D 03680, Ukraine. E-mail: victoriaroman@ukr.net

1. Романовская В.А., Столяр С.М., Малащенко Ю.П. Систематика метилотрофных бактерий. – Киев: Наук. думка, 1991. – 211 с.
2. Романовская В.А., Рокитко П.В., Шилин С.О., Малащенко Ю.П. Идентификация штаммов *Methylobacterium* с использованием сиквенс-анализа генов 16S рРНК // Микробиология. – 2004. – 73, № 6. – С. 846 – 848.
3. Романовская В.А., Рокитко П.В., Шилин С.О., Черная Н.А., Ташырев А.Б. Распространение бактерий рода *Methylobacterium* в различных биотопах Антарктики // Микробиол. журн. – 2009. – 71, № 6. – С. 4–11.
4. Романовская В.А., Ташырев А.Б., Шилин С.О., Черная Н.А. Устойчивость к УФ излучению микроорганизмов, изолированных из наскальных биотопов Антарктики // Микробиол. журн. – 2010. – 72, № 3. – С. 8-14.
5. Романовская В.А., Ташырев А.Б., Шилин С.О., Гладка Г.В. Распространение психрофильных микроорганизмов в наземных биотопах Антарктики // Микробиол. журн. – 2012. – 74, № 1. – С. 00–00.
6. Ташырев А.Б., Романовская В.А., Рокитко П.В., Шилин С.О., Черная Н.А., Ташырева А.А. Микробиологический анализ наземных биотопов Антарктики // Микробиол. журн. – 2010. – 72, № 2. – С. 4–11.
7. Ташырев А.Б., Романовская В.А., Шилин С.О., Черная Н.А. Скрининг дрожжей-продуцентов меланина в наземных антарктических биотопах. Микробиол. журнал. – 2010. – 72, № 1. – С. 3–10.
8. Ташырева Г.О., Іутинська Г.О., Ташырев О.Б. Стійкість до іонів міді(II) антарктичних штамів *Enterobacter hormaechei* та *Brevibacterium antarcticum* за різних умов культивування // Микробиол. журн. – 2009. – 71, № 4. – С. 3–8.

9. D'Amico S., Collins T., Marx J.C., Feller G., Gerday C. Psychrophilic microorganisms: challenges for life // EMBO Rep. – 2006. – 7, N 4. – P. 385–389.
10. Casanueva A., Tuffin M., Cary C., Cowan D.A. Molecular adaptations to psychrophily: the impact of 'omic' technologies // Trends Microbiol. – 2010. – 18, N 8. – P. 374–381.
11. Romanovskaya V.A., Rokitko P.V., Tashirev O.B., Shilin S.O., Chernaya N.A. Psychrophilic methylotrophic bacteria in Antarctic region biotopes // Ukrainian Antarctic Journal (ISSN 1727-7485). – 2006, N 4–5. – С. 241–245.
12. Siddiqui K.S., Poljak A., Guilhaus M., De Francisci D., Curmi P.M., Feller G., D'Amico S., Gerday C., Uversky V.N., Cavicchioli R. Role of lysine versus arginine in enzyme cold-adaptation: modifying lysine to homo-arginine stabilizes the cold-adapted alpha-amylase from *Pseudoalteromonas haloplanktis* // Proteins. – 2006. – 64, N 2. – P. 486–501.
13. Sonan G.K., Receveur-Brechot V., Duez C., Aghajari N., Czjzek M., Haser R., Gerday C. The linker region plays a key role in the adaptation to cold of the cellulase from an Antarctic bacterium // Biochem J. – 2007. – 407, N 2. – P. 293–302.
14. Steven B., Briggs G., McKay C.P., Pollard W.H., Greer C.W., Whyte L.G. Characterization of the microbial diversity in a permafrost sample from the Canadian high Arctic using culture-dependent and culture-independent methods // FEMS Microbiol. Ecol. – 2007. – 59, N 2. – P. 513–523.
15. Wilson S.L., Walker V.K. Selection of low-temperature resistance in bacteria and potential applications // Environ. Technol. – 2010. – 31, N 8-9. – P. 943–956.

*Робота проводилась при піддержкє Національного антарктического научного центра МОН України.*

Отримано 17.05.2011

УДК 577.152.32

**О.В. Гудзенко, Л.Д. Варбанець**

*Институт мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, ДОЗ680, Україна*

## **ДОСЛІДЖЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ГРУП $\alpha$ -L-РАМНОЗИДАЗИ *CRYPTOCOCCUS ALBIDUS***

*Дослідження впливу катіонів, аніонів і специфічних хімічних реагентів: 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-3-етилкарбодимід метиодиду, ЕДТА, о-фенантроліну, дитіотреїтолу, L-цистеїну,  $\beta$ -меркаптоетанолу, n-хлормеркурібензоату (n-ХМБ), N-етилмалейміду на активність  $\alpha$ -L-рамнозидази *Cryptococcus albidus* свідчить, що суттєвий вплив мають іони  $Ag^+$ , які інгібують активність ензиму на 72,5 %. Рамноза в концентрації 1-5 мМ захищає ензим від негативної дії іонів  $Ag^+$ . На основі інгібіторного та кінетичного аналізу припускається участь у каталітичному акті карбоксильної групи C-термінальної амінокислоту та імідазольної групи гістидину.*

*Ключові слова:  $\alpha$ -L-рамнозидаза, *Cryptococcus albidus*, іони металів, специфічні хімічні реагенти, функціональні групи.*

Останнім часом ферменти мікробного походження набувають все більшого значення в різних областях харчової, фармацевтичної та хімічної промисловості. Особливий інтерес у дослідників викликають глікозидази, ферменти класу гідролаз (О-глікозид-гідролази), які здатні каталізувати гідроліз О-глікозидних зв'язків у глікозидах, оліго-, полісахаридах, гліколіпідах та інших глікокон'югатах. Одним із таких ензимів є  $\alpha$ -L-рамнозидаза ( $\alpha$ -L-рамнозид-рамногідролаза – К.Ф. 3.2.1.40), яка гідролітично відщеплює кінцеві невідновлені  $\alpha$ -1,2,  $\alpha$ -1,4 і  $\alpha$ -1,6 зв'язані залишки L-рамнози в природних продуктах, таких як нарингін, рутин, кверцитрин, гесперидин та інших рамнозівмістних глікозидах [1]. Здатність продукувати  $\alpha$ -L-рамнозидази зустрічається серед мікроорганізмів різних таксономічних груп – бактерій, мікроміцетів, але відомий лише один дріжджовий продуцент цього ензиму – *Pichia angusta* X349 [22]. На відміну від більшості  $\alpha$ -L-рамнозидаз ензим, який синтезує даний штам дріжджів, є внутрішньоклітинним, тому для його виділення необхідно руйнування клітини.

© О.В. Гудзенко, Л.Д. Варбанець, 2012